

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	久保田 茜
論文題目	苔類ゼニゴケにおける光周性生長相制御の分子機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>植物は日長を感知することで季節の変化を認識し、最適な季節に栄養生長相から生殖生長相への相転換を行う。このような日長依存的な生長相転換は陸上植物において広く観察される。その制御機構の解析がモデル植物シロイヌナズナを中心に進められ、分子レベルで実体が明らかにされつつある。しかしながら、陸上植物が光周性生長相転換の分子機構をどのように進化させてきたかについては未解明な点が多い。本論文では、基部陸上植物に属し、日長と光質による生長相転換が明確に観察される苔類ゼニゴケを材料として、陸上植物の光周性生長相制御機構の進化過程を解明することを目的とした。</p> <p>第1章では、ゼニゴケの長日条件依存的な生長相転換制御機構を明らかにするために、シロイヌナズナの光周性花成経路において主要な役割をもつ <i>GI</i> および <i>FKF1/ZTL/LKP2</i> 遺伝子のゼニゴケ相同遺伝子である <i>MpGI</i> および <i>MpFKF</i> 遺伝子の機能を解析した。<i>MpGI</i> および <i>MpFKF</i> の発現は概日時計によって制御され、ともに夕暮れに高発現していた。また、<i>MpGI</i> と <i>MpFKF</i> はゼニゴケの葉状体で広く共発現することが示唆された。酵母ツーハイブリッド法および共免疫沈降法を用いた解析により、<i>MpGI</i> と <i>MpFKF</i> は相互作用することが示された。このことから、ゼニゴケにおいて <i>MpGI</i>-<i>MpFKF</i> 複合体が形成されることが示唆された。さらに、<i>MpGI</i> と <i>MpFKF</i> のノックアウト株 <i>gi^{ko}</i>、<i>fkf^{ko}</i> は長日条件依存的な生殖器形成が完全に抑制され、<i>MpGI</i>-<i>MpFKF</i> 複合体がゼニゴケの生長相転換に必要であることが示唆された。また、<i>MpGI</i> と <i>MpFKF</i> を過剰発現させると短日条件で相転換が起こることから、<i>MpGI</i>-<i>MpFKF</i> 複合体がゼニゴケの生長相転換を促進することを示した。さらに、<i>MpGI</i> はシロイヌナズナ <i>gi</i> 変異体の遅咲きの表現型を相補できることから、<i>MpGI</i> は孢子体世代においても生長相制御因子として機能することが示唆された。</p> <p>第2章では、日長の計測に重要な概日時計の中心振動体の分子機構の解明が試みられている。その結果、ゼニゴケは、被子植物の主要な時計遺伝子である <i>TOC1/PRR</i> ファミリーのオルソログ <i>MpTOC1</i>、<i>MpPRR</i> と、<i>LHY/CCA1 REV</i> ファミリーのオルソログ <i>MpLCL</i> を構成因子とする概日時計をもつことを明らかにした。これらの時計遺伝子の発現は被子植物の対応するオルソログと類似した様式で24時間周期の概日リズムを刻んでおり、恒常条件下でもリズムが自律的に継続していた。また、<i>MpPRR</i>、<i>MpLCL</i>、<i>MpTOC1</i> のノックアウト株 <i>pr^{rko}</i>、<i>lcl^{ko}</i>、<i>toc^{ko}</i> では、時計遺伝子の発現リズムの周期や振幅が攪乱されたことから、これらの遺伝子が転写のフィードバックループを形成する可能性が考えられた。さらに、<i>pr^{rko}</i> や <i>toc^{ko}</i> においては、<i>MpGI</i> の発現リズムがほぼ消失した。このことから、<i>MpPRR</i>、<i>MpTOC1</i> が、<i>MpGI</i> のリズムの形成・維持に必要であることが示唆された。以上の結果から、ゼニゴケの概日時計は、被子植物の概日時計の原形となる分子機構を保持しており、<i>MpGI</i> をはじめとする下流遺伝子の発現や光周性生長相転換を制御することが示唆された。</p> <p>以上の結果から、申請者は概日時計と <i>GI</i>-<i>FKF1</i> を介した日長依存的な生長相制御機構は、生長相転換が孢子体世代あるいは配偶体世代に関わらず陸上植物の進化上普遍的に保存された分子機構であることを明らかにした。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

申請者は、陸上植物の生長相転換の光周性制御の分子機構の進化的起源を解明することを目的として、陸上植物進化の基部に位置する苔類のゼニゴケを材料に概日時計を介する日長計測と概日時計から発生制御への細胞内信号出力を中心として研究を進めた。まず、研究が進んでいるモデル植物シロイヌナズナの光周性花成経路において主要な役割をもつ *GI* および *FKF1/ZTL/LKP2* 遺伝子のゼニゴケ相同遺伝子である *MpGI* および *MpFKF* 遺伝子をゲノムデータベースから効率的に単離した。そして、*MpGI* および *MpFKF* の発現が概日時計によって制御され、ともに葉状体において夕暮れに発現ピークをもつことを示した。また、実験的にゼニゴケにおいて *MpGI*-*MpFKF* 複合体が形成されることを示した。さらに、相同組換えを利用して、*MpGI* と *MpFKF* のノックアウト株 *gi^{ko}*、*fkf^{ko}* を作成した。これらのノックアウト株は長日条件依存的な生殖器形成が完全に抑制されることを示すことで、*MpGI*-*MpFKF* 複合体がゼニゴケの生長相転換に必要であることを証明した。また、*MpGI* と *MpFKF* の過剰発現系統が短日条件で相転換することを示し、*MpGI*-*MpFKF* 複合体がゼニゴケの生長相転換を促進することを明らかにした。この過剰発現表現型は *MpGI*、*MpFKF* の変異体背景でも一方を過剰発現させたときには観察されないことから複合体形成が重要であることを示唆した。この過程ではゼニゴケの生長相転換の評価系を独自に確立したことも評価できる。さらに、*MpGI* がシロイヌナズナ *gi* 変異体の遅咲きの表現型を相補しうることを示すことで、*MpGI* は被子植物でも生長相制御因子として機能しうることを示唆した。

次に、日長の計測に重要な概日時計の中心振動体の分子実体の解明を進めた。ゼニゴケは、被子植物の主要な時計遺伝子である *TOC1/PRR* ファミリーのオルソログ *MpTOC1*、*MpPRR* と、*LHY/CCA1/REV* ファミリーのオルソログ *MpLCL* を構成因子とする概日時計をもつことを明らかにした。これらの時計遺伝子の発現は24時間周期の概日リズムを刻み、恒常条件下でもリズムが自律的に継続することを示した。また、これらの因子のノックアウト株では、時計遺伝子の発現リズムの周期や振幅が攪乱されたことから、これらの因子が転写のフィードバックループを形成する可能性を示した。さらに、一部の破壊株においては、*MpGI* の発現リズムがほぼ消失することから、*MpPRR*、*MpTOC1* が、*MpGI* のリズムの形成・維持に必要であることが示唆された。

以上、申請者は、植物が陸上進出した時点で日長による生長相転換の制御機構が成立していたという光周性相転換の起源と進化の知見を得たことに加え、基本的な分子機構が苔類ゼニゴケを用いて単純かつ明快に研究できることを示した点で植物生理学や植物分子生物学分野に貢献するところが大きい。

尚、本論文は、申請者の植物の生命科学に関する高度で幅広い学識と優れた能力により独創的かつ総合的に精緻な研究が展開されており、生命科学の理解と発展に寄与する発見が論理的かつ一貫性を持って記述されている。博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成26年6月6日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日